

SILVANA SCHWARZBACH

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE

***Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.**

Monografia apresentada ao Departamento
de Botânica do Setor de Ciências Biológicas
da Universidade Federal do Paraná, para
obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientador: Renato Goldenberg

**CURITIBA
2003**

*Dedico este trabalho a mim mesma e
às abelhas que foram sacrificadas
durante o decorrer deste estudo
(in memoriam)*

AGRADECIMENTOS

Com certeza esta é a parte deste trabalho que mais gostei de escrever, pois me fez lembrar de todas as pessoas que foram importantes para mim nessa fase. Cada uma contribuiu de uma maneira diferente e por isso todos precisam ser lembrados. Vai lá:

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Renato, meu orientador, pela oportunidade da realização deste trabalho e por aceitar uma orientada tão complicada e cheia de problemas como eu. Obrigada pelo apoio e pelo incentivo, ter conseguido finalizar esta monografia foi uma grande vitória para mim e um passo importante. Realmente o trabalho é a melhor solução, embora eu tenha demorado para descobrir isso...

Obrigada à Isabela, esposa do Renato, por ter me acompanhado na coleta das abelhas, esperando pacientemente que elas aparecessem, e pelas dicas.

Obrigado ao pessoal da Embrapa Florestas: Professor Carpanezi, que me efetivou como estagiária lá e me ajudou a procurar referências, Irineu, Paulino e Wilson, por terem procurado incansavelmente a “minha” planta, para isso até deixando de lado seus afazeres, e à Darlize por me ajudar com a burocracia e toda a papelada.

Mais uma vez, muito obrigada ao Wilson e a sua família, por cederem seu espaço para que eu pudesse realizar meu trabalho e pela hospitalidade com que fui tratada durante esse período. Até mesmo os cachorros foram simpáticos, embora insistissem em querer comer meu almoço.

Muito obrigada à Márcia, por ter permitido o uso de seu laboratório e materiais, e desculpe pela mancha na mesa!

Vale também agradecer aos colegas do departamento: Gustavo, Marina e Cecília e especialmente ao Fernando, que me deu várias dicas valiosas e me ajudou com os gráficos e com as fotos. Valeu!

Um muito obrigada ao professor Gabriel da Zoo, por ter identificado as abelhas e ao professor Rodney, pela rede de coleta e pelo tubo mortífero, emprestados e devolvidos em perfeitas condições, viu? Ao nosso coordenador Marco, por ter permitido o uso dos microscópios caríssimos do setor e por compartilhar comigo da opinião de que os tubos polínicos são mesmo lindos! Ao

Nino, da Biocel, pelas laminulas cedidas e também ao professor de química que preparou a solução de NaOH pra mim, no meio de uma aula de agronomia e cujo nome esqueci de perguntar... Graças a ele agora eu sei o que é equivalente grama e Normal! Viva!

À minha melhor amiga, Ju, por todos esses anos de amizade e companheirismo, pelos risos e pelas lágrimas. Aos amigos do curso: Thaís, Paola, Luciana, Gilson, Kleiton (obrigada pelas laminulas), Rafaéis, Loli, André, Cynthia, Fernanda e Gustavo (mais uma vez!). Vocês foram fundamentais em todos os momentos.

A minha titia Olinda pelo seu amor incondicional! Te adoro muito!

Obrigada ao meus cachorros Lord e à Pantera, e aos gatos Efístocles, Demétrius e Morpheus (da Ju), por terem me alegrado nos momentos difíceis com sua afeição.

Ao Renato Forster (parafraseando Camões), *"que dias há que na alma me tem posto um não sei quê, que nasce não sei onde, vem não sei como e dói não sei porquê..."*

E claro, aos meus queridos pais, que não sabem nada de biologia reprodutiva e que não vão ler este trabalho, mas que ainda assim vão sentir orgulho em saber que consegui escrever uma coisa assim, tão bonita.

E ao Rô, meu irmão, por ser meu irmão.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	iv
Lista de Figuras.....	v
Lista de Tabelas.....	vi
Resumo.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	3
3.1 Área de estudo.....	3
3.2 Espécie estudada.....	3
3.3 Coleta de dados.....	4
3.3.1 Polinizações controladas.....	4
3.3.2 Polinizações tardias.....	5
3.3.3 Fertilidade dos grãos de pólen.....	6
3.3.4 Crescimento de tubo polínico.....	7
3.3.5 Visitantes florais.....	7
4. RESULTADOS.....	9
4.1 A flor de <i>Tibouchina sellowiana</i>	9
4.2 Polinizações controladas.....	10
4.3 Polinizações tardias.....	13
4.4 Fertilidade dos grãos de pólen.....	14
4.5 Crescimento do tubo polínico.....	15
4.6 Visitantes florais.....	16
5. DISCUSSÃO.....	20
5.1 Sistema reprodutivo.....	20
5.2 Polinizações tardias.....	21
5.3 Visitantes florais e Mudança de coloração.....	23
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Botão com brácteas.....	11
Figura 2: Botão em pré-antese.....	11
Figura 3: Botão abrindo	11
Figura 4: Aspecto de flor de 1º dia.....	11
Figura 5: Aspecto de flor de 2º dia ensacada	11
Figura 6: Aspecto de flor de 2º dia exposta.....	11
Figura 7: Aspecto de flor de 3º dia.....	12
Figura 8: Flores com mais de 4 dias.....	12
Figura 9: Fruto formado.....	12
Figura 10: Detalhe das anteras porcidas.....	12
Figura 11: Indivíduo de <i>T. sellowiana</i>	12
Figura 12: <i>Trigona spinipes</i> pilhando.....	19
Figura 13: Dois espécimes de <i>Paratrigona subnuda</i> realizando pilhagem através da mastigação das anteras.....	19
Figura 14: <i>Melipona quadrifasciata</i> vibrando um grupo de três anteras grandes.....	19
Figura 15: Abelha vibradora não identificada.....	19
Figura 17: Abelha vibradora não identificada. Situação em que a proximidade do estigma pode causar polinização “acidental”.....	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tratamentos realizados e número de flores utilizadas em cada um deles.....	6
Tabela 2: Resultado individual das polinizações controladas realizadas com flores de 1º dia, no período da manhã.....	13
Tabela 3: Resultado geral da formação de frutos nas polinizações cruzadas e auto-polinizações de 1º, 2º e 3º dias.....	13
Tabela 4: Resultado geral das polinizações realizadas em flores de 1º dia, no período da manhã, utilizando pólen de flores de 1º, 2º e 3º dias e porcentagem de frutos formados.....	14
Tabela 5: Resultado geral da viabilidade dos grãos de pólen ao longo do desenvolvimento da flor.....	14
Tabela 6: Posicionamento do tubo polínico nos diferentes tratamentos e horários.....	16
Tabela 7: : Classificação dos visitantes coletados nas flores de <i>T. sellowiana</i> e seus modos de interação com as mesmas.....	17

Resumo

Neste trabalho investigou-se o sistema reprodutivo de *T. sellowiana*, a qual pertencente à família Melastomataceae, tribo Melastomae. Buscou-se associá-lo com a mudança de coloração observadas nas flores dessa espécie e com a visitação de vetores de pólen. O trabalho foi realizado com quatro indivíduos encontrados na cidade de Colombo (PR), numa região entremeada por fragmentos de Floresta Ombrófila Mista, durante o período de março a julho de 2003. A investigação do sistema reprodutivo envolveu: polinizações controladas com flores abertas no dia e com flores velhas (de segundo e de terceiro dias), manipuladas pela manhã e pela tarde; avaliação da formação de frutos; testes de viabilidade de grãos de pólen e estudo do crescimento de tubo polínico. Também foram coletados exemplares de abelhas que visitaram as flores dessa espécie, as quais tiveram seu comportamento registrado. *T. sellowiana* mostrou-se não apomítica e capaz de realizar tanto a polinização cruzada quanto a auto-polinização, produzindo frutos em proporções semelhantes, porém, devido as suas anteras poricidas, necessita de vetores para extração de pólen e deposição deste no estigma, sendo por isso incapaz de realizar a auto-polinização espontânea. As polinizações realizadas em flores de segundo e de terceiro dias mostraram que a flor permanece apta a ser polinizada até o terceiro dia de duração, porém com menor sucesso na produção de frutos a partir do segundo dia à tarde. Flores abertas no dia polinizadas manualmente com pólen de flores velhas tiveram formação de frutos equiparada àquelas polinizadas com pólen do dia, demonstrando a permanência da viabilidade do gametófito masculino. Corroborando esses resultados, os teste de viabilidade de grão de pólen, mostraram alta proporção de grãos viáveis (próximo de 80%). A análise de crescimento de tubo polínico mostrou que estes atingem o ovário entre 24 e 36 horas e começam a penetrar nos óvulos entre 48 e 60 horas a partir da polinização. Tanto na auto-polinização quanto na polinização cruzada, em flores de primeiro dia, o padrão de crescimento do tubo polínico é o mesmo. O mesmo é válido para flores velhas, à exceção daquelas de terceiro dia, nas quais não foram visualizados óvulos sendo penetrados, após 72 horas da polinização. Ao todo foram coletados e identificados nove visitantes diferentes nas flores de *T. sellowiana*, todos da família Apidae. Sete espécies apresentaram comportamento de buzz pollination. As demais retiravam o pólen fazendo cortes com o aparelho bucal nas anteras. Apenas *Xylocopa artifex* e *Melipona quadrifasciata* mostraram-se polinizadoras efetivas para essa espécie, devido ao seu grande porte. As demais espécies, devido ao seu pequeno porte, apesar de realizar a vibração, não tocavam o estigma da flor, agindo, portanto, como pilhadoras. As abelhas visitavam preferencialmente as flores brancas, que ofertavam pólen. A mudança de coloração observada nas flores de *T. sellowiana* talvez sirva como uma aviso às abelhas para não visitarem flores velhas, cujo pólen já foi esgotado. Porém, esse fato não está relacionada a perda de receptividade do estigma, que continua viável por até 3 dias. Por outro lado, a manutenção das flores velhas na planta pode fazer papel de chamariz para os polinizadores. Aparentemente, flores de dois e de três dias que sofreram antese ensacadas (e que portanto, não foram polinizadas) não mudam de cor tão radicalmente como as flores expostas. Mas é preciso realizar outros experimentos antes de concluir que a polinização possa vir a desencadear a mudança de cor nas flores de *T. sellowiana*.

1 INTRODUÇÃO

A família Melastomataceae constitui-se numa das mais importantes da flora neotropical, com cerca de 4200 a 5000 espécies pertencentes à 11 tribos e 185 gêneros (Renner, 1993).

Espécies de árvores do gênero *Tibouchina* (quaresmeiras ou manacás) têm notável valor ornamental e, como pioneiras, em atividades de restauração ambiental em florestas do Sul e do Sudeste do Brasil. Sua propagação por sementes, embora abundante na natureza, encontra dificuldades em viveiros comerciais, o que enseja estudos de biologia reprodutiva (Carpanezzi, comunicação pessoal).

O sistema reprodutivo de espécies da família Melastomataceae já foi alvo de diversos estudos, como os de Renner (1989, 1990 e 1993), Goldenberg & Shepherd (1998), Melo et al (1999), Goldenberg & Varassin (2001) e Fracasso (2003). Dentro da família, predomina o sistema reprodutivo xenógamo (Renner, 1989), bem caracterizado pela distância entre os estames e o estigma da flor e pela necessidade de manuseio das anteras por parte de vetores de pólen. Mecanismos de auto-incompatibilidade (aparentemente gametofítica) e de apomixia são relativamente freqüentes, mas geralmente não ocorrem em Melastomeae (Goldenberg & Shepherd 1998), tribo à qual pertence *Tibouchina* (Renner 1993).

A polinização da grande maioria das espécies de Melastomataceae é feita por abelhas, embora existam casos documentados de polinização por aves e roedores (Renner 1989) ou moscas (Goldenberg & Shepherd, 1998). As anteras possuem formas variáveis, mas normalmente apresentam deiscência poricida (Goldenberg & Varassin, 2001). Dessa forma, o mecanismo utilizado pelas abelhas para a extração do pólen é o abarcamento e vibração das anteras, processo conhecido como “buzz pollination” (Buchmann, 1983). Dependendo do comportamento apresentado pelo visitante, o pólen pode ou não ser depositado no estigma (Buchmann & Hurley, 1978). Quanto à dispersão, aproximadamente 40% das espécies apresentam frutos do tipo cápsula e anemocoria. Os outros 60% representam espécies de frutos carnosos e sementes dispersas por animais (Renner, 1989).

O papel da mudança de coloração observado em diversas espécies de angiospermas tem sido discutido. Alguns estudos afirmam que esta mudança de cor atua como um aviso às abelhas para estas não visitarem flores já velhas (Endress, 1994). Paralelamente, a persistência das pétalas nas flores não mais receptivas confere um colorido intenso às plantas, que atua na sinalização, aos polinizadores, à longa distância (Weiss, 1991). Após sofrer o processo de mudança de cor, as flores geralmente não ofertam mais recursos e o estigma mostra-se não mais receptivo (Weiss, 1995).

Dessa forma, a mudança de cor pode trazer benefícios para ambos, planta e polinizador. As flores são polinizadas com mais eficácia, enquanto os polinizadores, direcionados às flores com recurso, acabam poupando tempo e energia (Weiss, 1995).

Dentro das Melastomataceae foram registradas oito espécies de diferentes gêneros que apresentam mudança de cor (Weiss, 1995), todas encontradas nas Américas. *Tibouchina sellowiana* não foi inserida nesse levantamento.

Tibouchina sellowiana é uma espécie de Melastomataceae cujas flores não apresentam néctar aos visitantes, oferecendo como recurso apenas pólen. Estas flores apresentam também uma característica particular: suas pétalas são brancas ao abrir, tornando-se progressivamente arroxeadas ao final do primeiro dia até purpúreas nos dias subseqüentes. Uma população desta espécie teve o sistema reprodutivo investigado na Serra do Japi, SP, mostrando a ausência de apomixia e de auto-incompatibilidade, além de baixa proporção de frutos formados em polinizações tardias (Goldenberg & Varassin, 2001).

Dessa forma, visando relacionar a mudança de coloração nas pétalas de *T. sellowiana* com o comportamento dos polinizadores, no presente estudo foi investigado o sistema reprodutivo dessa espécie, através de polinizações controladas e avaliação da formação de frutos, testes de viabilidade de pólen e crescimento de tubo polínico. Também foram efetuadas coletas e observações dos visitantes florais no local do estudo.

2 OBJETIVOS

Este trabalho visa estudar o sistema reprodutivo de *T. sellowiana* e relacioná-lo com a mudança de cor observada nas flores e com a visitação às mesmas por parte de polinizadores.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo:

O presente estudo, desenvolvido entre os meses de março e julho de 2003, foi realizado no município de Colombo, PR, em área próxima à Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira, próximo ao Km 112, ao lado esquerdo da Rodovia. A cidade de Colombo está situada aproximadamente a 25°20' S e 49°14' W. O clima da região, segundo Köppen, é classificado como subtropical úmido, mesotérmico (Cfb), com média anual de umidade relativa do ar em torno de 81%, e a precipitação média anual entre 1400 a 1500 mm (MAACK, 1981). O município apresenta chuvas bem distribuídas durante o ano todo, não havendo uma estação seca muito marcada. Apesar de serem freqüentes geadas no mês de junho, a temperatura média varia pouco conforme o ano. As temperaturas médias do mês mais quente são sempre inferiores a 22° C e (IAPAR, 1978).

A região é habitada, com casas e chácaras entremeadas por fragmentos de Floresta Ombrófila Mista, onde *T. sellowiana* ocorre freqüentemente. As plantas utilizadas neste estudo ocorrem naturalmente (não foram plantadas) em uma pequena chácara, bastante arborizada.

3.2 Espécie estudada

Tibouchina sellowiana (Cham.) Cogn. (Fig. 11) é uma eudicotiledônea pertencente à família Melastomataceae, tribo Melastomeae (Renner, 1993). É popularmente conhecida como manacá e é muito utilizada como planta ornamental, devido à beleza e abundância de suas flores. Ocorre na Floresta Ombrófila Densa atlântica em vários Estados e, no Paraná, adentra a borda da Floresta Ombrófila Mista. (Carpanezzi, comunicação pessoal). Pode ser

encontrada no alto das encostas das serras e capoeiras, situados em solos rasos e enxutos, onde pode formar agrupamentos (Reitz et al. 1983).

Os indivíduos desta espécie são relativamente pequenos, com alturas variando entre 3 e 6m. Suas folhas, perenes e de cor verde-escura, são agudas no ápice e na base, com formato variando entre elípticas-oblongas a lanceoladas-oblongas, com 3 nervuras bem distintas. Apresentam flores solitárias, presas a ramos curtos (1-3cm), com presença de quatro brácteas, caducas, de cor rosada. As pétalas medem em torno de 2-3 x 1,5-2 cm, são obovadas e obliquamente truncadas. Possui anteras dimorfas, sendo que as anteras grandes medem 9-10 mm e seus conectivos, 5-6mm, enquanto as anteras menores medem 6-7 mm e seus conectivos, 2-3 mm. O ovário é ínfero e o estilete glabro, com estigma punctiforme. Os frutos são secos e deiscentes. A floração acontece nos meses de fevereiro à abril (Wurdack, 1962).

As exsicatas dos materiais testemunhas deste trabalho foram depositadas no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná.

3.3 Coleta de dados

3.3.1 Polinizações controladas

Visando o estudo do sistema reprodutivo de *Tibouchina sellowiana*, foram realizadas polinizações controladas baseadas em 5 tratamentos (Goldenberg & Shepherd, 1998):

- 1) Testemunha: botões foram marcados, sem ensacamento e acompanhados.
- 2) Apomixia: foi feita a remoção dos estames em botões de pré-antese (Radford et al, 1974), com auxílio de pinça. O gineceu não foi danificado. Após esse procedimento, os botões foram ensacados.
- 3) Auto-polinização espontânea: nesse tratamento, os botões são apenas ensacados, sem receber qualquer tipo de manipulação.
- 4) Auto-polinização manual: foram ensacados botões que sofreriam antese no dia posterior. Depois de abertas, as flores eram polinizadas manualmente com pólen provindo de outras flores, do mesmo indivíduo, e a

seguir ensacadas. A remoção do pólen das anteras era feita apertando-se a base das mesmas, de forma que este saía como “pasta de dente”. Depois era depositado no estigma da flor e esta, ensacada.

5) Polinização cruzada: neste tratamento as flores eram polinizadas manualmente com pólen provindo dos outros indivíduos.

As flores permaneceram ensacadas até a queda do gineceu, ocasião em que o saco de papel era retirado.

Cada tratamento foi realizado em flores de 1º dia, ou seja, flores cuja antese deu-se no dia do tratamento. Essas flores foram manuseadas no período da manhã, sempre entre 7:00 e 10:00. As polinizações controladas foram efetuadas em 4 indivíduos. Para cada tratamento foram utilizadas 40 - 48 flores, cujos botões foram previamente isolados com sacos de papel (Tabela 1).

3.3.2 Polinizações tardias

Além das polinizações controladas, foram realizados tratamentos com polinizações tardias. Nestas foram utilizadas flores de 1º dia, no período da tarde, e flores de 2º dia (ou seja, em que as flores permaneceram ensacadas por um dia e só receberam tratamentos no dia posterior à antese), nos dois períodos do dia, manhã e tarde. Os tratamentos realizados com tais flores foram a autopolinização e a polinização cruzada. As flores tratadas no período da tarde foram manipuladas sempre entre às 15:00h e às 17:00h. Tal procedimento visava verificar possíveis diferenças na quantidade de frutos formados em relação àqueles provindos de flores polinizadas no primeiro dia da antese, logo pela manhã. Também foram realizadas algumas polinizações cruzadas com flores de 3º dia, pela manhã, nos indivíduos 1 e 3. Para cada um destes tratamentos foram utilizadas entre 15 e 24 flores (Tabela 1).

Visando averiguar se haveria alguma modificação na fertilidade do pólen em flores de 2º e 3º dias, foram feitas polinizações cruzadas em flores de 1º dia, com pólen provindo de flores de 2º e 3º dias. Para cada tratamento foram utilizadas 24 flores.

A tabela 1 traz um resumo dos tratamentos, sendo já descartadas as flores que, durante o experimento, sofreram algum tipo de problema, como quebra de ramo antes da formação do fruto, etc.

Tabela 1 – Tratamentos realizados no estudo do sistema reprodutivo de *T. sellowiana* e número de flores utilizadas em cada um deles. 1° M = flores de 1° dia, tratadas pela manhã; 1° T = flores de 1° dia, tratadas à tarde; 2° M = flores de 2° dia, tratadas pela manhã; 2° T = flores de 2° dia, tratadas à tarde. 3° M = flores de 3° dia, tratadas pela manhã; 1° M – pólen de 2 dias = flores de 1° dia, polinizadas com pólen de flores de 2 dias; 1° M – pólen de 3 dias = flores de 1° dia, polinizadas com pólen de flores de 3 dias.

Tratamento	Número de flores
Testemunha (1° M)	40
Apomixia (1° M)	40
Auto-polinização espontânea (1° M)	40
auto-polinização (1° M)	40
Polinização cruzada (1° M)	48
Autopolinização (1° T)	18
Polinização cruzada (1° T)	23
Auto-polinização (2° M)	18
Polinização Cruzada (2° M)	22
Autopolinização (2° T)	18
Polinização Cruzada (2° T)	21
Polinização Cruzada (3° M)	15
Polinização Cruzada (1° M – pólen de 2 dias)	24
Polinização Cruzada (1° M – pólen de 3 dias)	24

Os frutos foram acompanhados pelo período de 2 meses, entrando na contagem e considerados como efetivamente formados aqueles que permaneceram pelo menos por um mês presos ao ramo. A porcentagem de frutos formados foi calculada a partir do número de flores tratadas.

3.3.3 Fertilidade do grão de pólen

A avaliação dos grãos de pólen compreendeu dois aspectos: proporção de grãos viáveis e duração da fertilidade dos mesmos. Para isso, foram coletados três botões em pré-antese de cada indivíduo, e também três flores de dois dias e três flores de três dias, previamente ensacadas, de dois dos indivíduos. Todo o material coletado foi fixado em FAA (50%) e posteriormente levado ao laboratório para análise.

Para cada botão e para cada flor coletados foi confeccionada uma lâmina da seguinte maneira: dois estames eram retirados, colocados sobre lâmina, corados com carmim acético (Radford et al, 1974) e a seguir pressionados com a lamínula e esmagados, de forma a fazer com que os grãos de pólen fossem expulsos da antera. A seguir era realizada a contagem de grãos sob microscópio óptico. Todos os grãos encontrados em campo de visão escolhido aleatoriamente eram contados e classificados em viáveis e inviáveis, podendo ser distinguidos pela coloração (avermelhados quando viáveis e transparentes quando não o eram), perfazendo um total de 100 grãos contados por lâmina. Destes valores foi calculada a percentagem de grãos viáveis em cada botão/flor.

3.3.4 Crescimento de tubo polínico

Para a análise do crescimento do tubo polínico foram realizadas polinizações em apenas um dos indivíduos e coleta das flores polinizadas em diferentes horários.

As polinizações foram realizadas sempre com cinco flores para cada horário de coleta, dentro de cada tratamento. Os tratamentos foram os seguintes: flores de 1º dia, no período da manhã, sofreram auto-polinização e polinização cruzada; flores de 1º dia, no período da tarde e flores de 2º dia, nos períodos da manhã e da tarde foram submetidas apenas à polinização cruzada. As flores foram coletadas após 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 84 horas após a polinização. No período da manhã as polinizações foram realizadas sempre entre 7:00h e 10:00h e no período da tarde entre 15:00h e 17:00h. O material coletado foi fixado em FAA (50%), dissecado, e observado em microscópio de fluorescência, de acordo com o método de Martin (1959).

3.3.5 Visitantes florais

Ao todo foram realizadas 27 horas de observação de visitantes às flores de *T. sellowiana*. Os horários de observação ficaram situados entre 6:00h e 17:00h. Quando possível, foram coletadas todos os espécimes de abelhas que visitaram as flores. Para cada uma das espécies coletadas foram feitas anotações, visando diferenciá-las quanto à morfologia, comportamento e tempo

de permanência na flor, assim como a forma de exploração da mesma. As abelhas coletadas foram identificadas pelo Dr. Gabriel A. R. Melo, do Laboratório de Biologia Comparada de Hymenoptera, Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná.

4 RESULTADOS

4.1 A flor de *Tibouchina sellowiana*

A abertura do botão (Fig. 1, 2 e 3) dá-se no período da manhã, entre 6:00h e 8:30h, dependendo da temperatura ambiente. Em dias quentes, essa abertura ocorre um pouco mais cedo, entre 6:00 e 7:00hs, enquanto em dias mais frios a abertura dá-se entre 7:00h e 8:30h. Quando abertas, as flores apresentam corola de pétalas brancas e a porção distal das mesmas com contornos arroxeados (Fig. 4). As anteras (Fig. 10) ficam levemente próximas do estigma. Logo após o amanhecer, o pólen das anteras encontra-se “pastoso”, devido a grande umidade do ar nesse período. Ao longo do dia, torna-se um pouco mais seco e menos aglutinado dentro das anteras. Ao final do dia, depois de visitadas, as flores apresentam os estames um pouco mais afastados do estigma em relação à posição da manhã. As flores permanecem com uma coloração semelhante àquela observada pela manhã, porém já com uma sutil tonalidade rosada na porções brancas das pétalas. Por volta das 16:00h, todo o pólen das anteras já foi explorado pelos visitantes, e estas exibem inúmeras marcas deixadas por eles.

No segundo dia de desenvolvimento da flor, nota-se a grande mudança na coloração das pétalas, que passam do branco ao rosa, assim como os filetes e o estilete (Fig. 6). Também nesse dia, as anteras começam a tomar uma coloração enegrecida, iniciando-se a partir do poro e indo em direção a base. Em flores ensacadas e não visitadas de segundo dia, não se observa uma mudança radical na coloração das pétalas, quando em comparação a uma flor exposta (Fig. 5). Da mesma forma, os estames não parecem mudar de posição.

No terceiro dia, as pétalas apresentam-se com uma coloração purpúrea bastante nítida, enquanto os filetes e o estilete tomam uma forte coloração rosa (Fig. 7). As anteras tornam-se mais enegrecidas. Da mesma forma como ocorre com uma flor de segundo dia ensacada e não polinizada, algumas flores de 3º dia, na mesma situação, aparentemente não apresentaram mudança radical de coloração (para arroxeado), mas mantiveram um tom de cor parecido com aquele encontrado em flores de 2º dia, expostas.

No quinto dia ocorre a queda dos estames (Fig. 8). Em flores não ensacadas foi observado que a queda do estilete dá-se antes da queda das pétalas, ocorrendo entre o 6º e o 8º dia. Em flores ensacadas, o estilete, assim como as pétalas, tem duração maior, podendo permanecer por até 9 dias, no caso do primeiro e por 10 a 12 dias no caso dessas últimas.

Quando formado, o fruto apresenta a região da deiscência com uma coloração avermelhada (Fig. 9), que vai se tornando marrom e seca quando se torna próximo o dia da abertura. O fruto é do tipo cápsula autocórica. De maneira geral, o tempo de formação dos frutos, até a abertura, variou entre 25 e 35 dias, dependendo das condições climáticas. Os períodos de temperaturas elevadas aceleraram o processo de amadurecimento, enquanto que em temperaturas mais baixas, este deu-se de forma mais lenta. A queda dos ovários nas flores não polinizadas (acompanhada através dos tratamentos de auto-polinização espontânea e de apomixia) acontecia aproximadamente entre o 11º e o 15º dia.

4.2 Polinizações controladas

Os resultados das polinizações controladas (tabela 2) demonstraram que para nos indivíduos de *T. sellowiana* da população estudada não há produção de frutos por apomixia. A espécie produz frutos tanto através de polinização cruzada quanto auto-polinização, mas não através de auto-polinização espontânea. Para esses dois primeiros tratamentos, o número de frutos formados foi semelhante. Em todos os indivíduos a produção de frutos nas flores testemunhas foi baixa quando comparada aos outros tratamentos de resultados positivo.



Figura 1: Botão com brácteas



Figura 2: Botão em pré-antese



Figura 3: Botão abrindo



Figura 4: Aspecto de flor de 1º dia



Figura 5: Aspecto de flor de 2º dia ensacada



Figura 6: Aspecto de flor de 2º dia exposta



Figura 7: Aspecto de flor de 3º dia



Figura 8: Flores com mais de 4 dias



Figura 9: Fruto formado

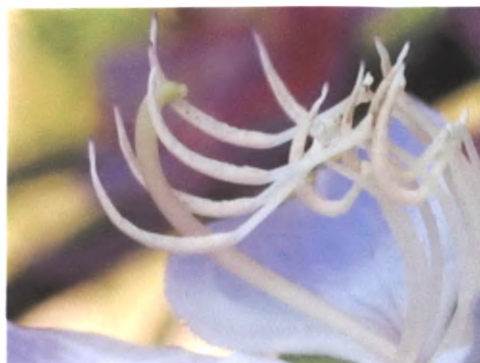


Figura 10: Detalhe das anteras porcidas



Figura 11: Indivíduo de *T. sellowiana*

Tabela 2: Resultado individual das polinizações controladas realizadas com flores de 1º dia, no período da manhã. **A**: testemunha; **B**: apomixia; **C**: auto-polinização espontânea; **D**: auto-polinização; **E**: polinização cruzada; **n**: número de flores tratadas; **nFF**: número de frutos formados; **%FF**: porcentagem de frutos formados em cada tratamento.

Indivíduo	A		B		C		D		E	
	N	nFF	n	nFF	N	nFF	N	nFF	n	nFF
1	10	2	10	0	10	0	10	9	12	11
2	10	5	10	0	10	0	10	10	12	10
3	10	2	10	0	10	0	10	9	12	9
4	10	4	10	0	10	0	10	8	12	10
Total	40	13	40	0	40	0	40	36	48	40
%FF		32,5		0		0		90		83,3

4.3 Polinizações tardias

Os resultados das polinizações tardias (Tabela 3) mostraram que os tratamentos de primeiro dia - tarde e segundo dia - manhã formaram frutos em proporções semelhantes aos tratamentos de primeiro dia de polinização durante o período da manhã. Já na formação de frutos provindos de polinizações de segundo dia - tarde, percebe-se uma queda no número destes, que culmina com a quase ausência de frutos formados nas polinizações de 3º dia, pela manhã. Comparativamente, a formação de frutos por auto-polinização e por polinização cruzada foram semelhantes.

Tabela 3: Resultado geral da formação de frutos nas polinizações cruzadas e auto-polinizações de 1º, 2º e 3º dias. **D**: auto-polinização; **E**: polinização cruzada; **n**: número de flores tratadas; **nFF**: número de frutos formados; **%FF**: porcentagem de frutos formados.

	D			E		
	N	nFF	%FF	N	nFF	%FF
1º dia manhã	40	36	90	48	40	83,3
1º dia tarde	20	18	90	23	21	91,3
2º dia manhã	18	16	88,89	22	20	90
2º dia tarde	19	11	57,89	24	19	79,17
3º dia manhã	-	-	-	15	3	20

Os tratamentos que testaram a formação de frutos à partir de pólen provindo de flores de 2 e de 3 dias, com flores de primeiro dia no período da manhã, mostraram que este continua sendo viável (Tabela 4). A produção de frutos à partir destas polinizações foi semelhante à aquela obtida na polinização cruzada com os de pólen de flores de primeiro dia. O maior sucesso na produção de frutos foi obtido com pólen de flores de 2 dias (100%).

Tabela 4: resultado das polinizações cruzadas realizadas em flores de 1º dia, no período da manhã, utilizando pólen de flores de 1º, 2º e 3º dias e porcentagem de frutos formados; **n**: número de flores tratadas; **nFF**: número de frutos formados; **%FF**: porcentagem de frutos formados.

	N	NFF	%FF
Pólen de flor de 1º dia	48	40	83,3
Pólen de flor de 2º dia	24	24	100
Pólen de flor de 3º dia	23	21	91,3

4.4 Fertilidade dos grãos de pólen

A análise dos grãos de pólen ao microscópio (Tabela 5) mostrou que a viabilidade dos mesmos é semelhante entre aqueles provindos de botões e de flores de segundo e de terceiro dia. A taxa de fertilidade ficou na faixa dos 80% para os três períodos analisados e houve pouca variação de fertilidade entre os indivíduos.

Tabela 5: resultado geral da viabilidade dos grãos de pólen ao longo do desenvolvimento da flor. **N**: número total de grãos contados nos indivíduos; **%GV**: porcentagem de grãos viáveis

	Período					
	Botão		2º dia		3º dia	
Indivíduo	%GV	N	%GV	N	%GV	N
1	71	(300)	79,6	(300)	92,3	(300)
2	81	(300)	93,6	(300)	74	(300)
3	77	(300)	-		-	
4	93,3	(300)	-		-	
total	80,58	(1200)	86,6	(600)	83,16	(600)

4.5 Crescimento do tubo polínico

A análise do crescimento de tubos polínicos sob microscopia de fluorescência (Tabela 6), na polinizações cruzadas de 1º dia – manhã, mostrou que após 12 horas estes encontram-se na porção inicial do estilete. Em 24 horas atingem a porção basal do estilete, sem penetrar no ovário. Entre 24 e 36 horas adentram o ovário e aí permanecem, como que estagnados por mais 12 horas, sem penetrar nos óvulos. Entre 48 e 60h após a polinização foram registradas os primeiros tubos polínicos adentrando a micrópila de alguns óvulos. E finalmente, após 72 horas, uma maior quantidade destes penetrando os óvulos. A autopolinização, no mesmo período e horários, teve resultados idênticos.

Para os demais tratamentos analisados (2º – manhã e 3º – manhã), a posição dos tubos polínicos era semelhante, apenas com uma leve discrepância no final do período de 12 horas, em que estes encontravam-se um pouco mais próximos da superfície em relação a aqueles de 1º dia – manhã, no mesmo período.

Conforme as horas avançavam, as células do estilete tomavam uma coloração arroxeada intensa. Essa característica foi bem visualizada nas flores analisadas de 2º e 3º dias. Para todos os tratamentos e horários sempre foram encontradas grandes quantidades de tubos polínicos dentro do gineceu.

Tabela 6: Posicionamento do tubo polínico nos diferentes tratamentos e horários. **1° M**: flor de 1° dia, polinizada pela manhã; **2° M**: flor de segundo dia polinizada pela manhã; **3° M**: flor de 3° dia, polinizada pela manhã, **auto**: auto-polinização; **cruz**: polinização cruzada.

Posicionamento dos tubos polínicos						
Tratamento	12h	24h	36h	48h	60h	72h
1° M – auto	Porção superior do estilete	Base do estilete sem atingir o ovário	Dentro do ovário, mas sem atingir os óvulos	Dentro do ovário, mas sem atingir os óvulos	Penetrando a micrópila de alguns óvulos	Maior número de óvulos sendo penetrados
1° M – cruz	Porção superior do estilete	Base do estilete sem atingir o ovário	Dentro do ovário, mas sem atingir os óvulos	Dentro do ovário, mas sem atingir os óvulos	Penetrando a micrópila de alguns óvulos	Maior número de óvulos sendo penetrados
2° M – cruz	Porção superior do estilete, próximos à superfície	Porção basal do estilete, próximos ao ápice do ovário	Dentro do ovário, mas sem atingir os óvulos	Dentro do ovário, mas sem atingir os óvulos	Penetrando a micrópila de alguns óvulos	Maior número de óvulos sendo penetrados
3° M – cruz	-	-	-	-	-	Dentro do ovário, mas sem penetração nos óvulos

4.6 Visitantes florais

Ao todo foram capturados exemplares de 8 espécies diferentes de abelhas, todas da família Apidae (Tabela 7). Dependendo do tamanho do vetor, a polinização pode ocorrer ou não. Os vetores de grande porte extraem o pólen através do abarcamento e vibração de todas as anteras, enquanto que os de pequeno porte fazem essa extração através da vibração individual de cada antera. *M. quadrifasciata* vibrava as anteras em grupos, abraçando e vibrando as anteras menores e logo em seguida assumindo o mesmo comportamento em relação às maiores (ou vice versa). Das espécies coletadas, apenas duas não apresentaram o comportamento de “buzz pollination”, extraindo o pólen das anteras através da mastigação das mesmas.

Tabela 7: Visitantes coletados nas flores de *T. sellowiana* e seus modos de interação com as mesmas. **Bz**: buzz pollination; **Pi**: pilhagem; **(+)**: contato com o estigma observado; **(-)**: contato com estigma não observado; **G**: tamanho corporal grande; **M**: tamanho corporal médio; **P**: tamanho corporal pequeno.

Espécie	Modo de captura de pólen	Manuseio das anteras	Contato com o estigma
<i>Xylocopa artifex</i> (G)	Bz	Vibração de todas	+
<i>Melipona quadrifasciata</i> (M)	Bz	Vibração das anteras pequenas (em conjunto) e depois das grandes (em conjunto)	+
<i>Melipona marginata</i> (P)	Bz	Vibração uma a uma	-
<i>Trigonopedia</i> sp (P)	Bz	Vibração uma a uma	-
<i>Hexomalopsis bicellularis</i> (P)	Bz	Vibração uma a uma	-
<i>Hexomalopsis</i> sp (P)	Bz	Vibração uma a uma	-
<i>Trigona spinipes</i> (P)	Pi	Mastigação	-
<i>Paratrigona subnuda</i> (P)	Pi	Mastigação	-

De maneira geral, o número de visitas de abelhas às flores de *T. sellowiana* da população estudada foi baixo. Essa situação pode ser evidenciada pelo número de flores testemunhas que formaram fruto. Havia um número muito grande de abelhas pilhadoras (*T. spinipes*, Fig. 14, e *P. subnuda*, Fig. 15), que iniciavam suas atividades aproximadamente às 8:00h, indo com grande intensidade até às 15:00 -16:00h, horário em que o pólen das flores do dia já havia sido esgotado pelas visitas.

De maneira geral o horário de pico das atividades ocorriam entre às 11:00h e 14:00h, correspondente às temperaturas mais elevadas do dia. As baixas temperaturas ocorridas durante o período de realização do estudo talvez tenham inibido a visitação das outras espécies.

Xylocopa artifex e *Melipona quadrifasciata* (Fig. 16) mostraram-se como polinizadoras efetivas para *T. sellowiana*. Ao visitar a flor, estas espécies focavam o dorso sujo de pólen no estigma, o que caracteriza a polinização. As demais espécies, com exceção de *Trigona spinipes* e *Paratrigona subnuda*, devido ao seu pequeno porte e ao seu comportamento de vibrar cada antera

(Fig. 17) individualmente, mostraram-se ineficazes como polinizadoras, uma vez que essas situações não permitiam o contato com o estigma. Em uma das abelhas pequenas que coletavam o pólen por vibração da antera, foi observado um comportamento de “polinização acidental” (Fig.18), em que a abelha, ao tentar vibrar uma das anteras mais longas, acabava deslocando esta com seu peso em direção ao estigma e tocando-o. Mas tal situação mostrou-se rara.

Nas abelhas classificadas como pilhadoras nunca foi observada nenhuma situação em que mantivessem contato com o estigma, devido ao seu porte muito pequeno. Estas abelhas faziam cortes nas anteras, retirando o pólen.

Todas as abelhas visitavam preferencialmente flores de 1º dia, mas foram observadas algumas visitas a flores velhas. Para *Xylocopa artifex*, foram registradas 13 visitas, pelo mesmo indivíduo, à 13 flores da mesma planta, sendo 10 de primeiro dia e 3 de segundo dia, com os mesmo padrões de comportamento. A visita durava em média 3 segundos para cada flor. Esta abelha pairava alguns poucos segundos sobre a flor antes de pousar sobre ela. As demais espécies de abelhas que realizavam vibração demoravam mais tempo para realizar a extração de pólen, normalmente vibrando quase todas anteras de uma mesma flor, uma por uma.

Ao desensacar algumas flores de segundo dia para serem manipuladas, algumas abelhas imediatamente aproveitavam o momento para visitar a flor e extrair o pólen das anteras, que se encontravam ainda cheias. Esse comportamento foi registrado nas duas espécies pilhadoras e em uma espécie vibratória pequena, não identificada.



Figura 12: *Trigona spinipes* pilhando



Figura 13: Dois espécimes de *Paratrigona subnuda* realizando pilhagem através da mastigação das anteras



Figura 14: *Melipona quadrifasciata*
Vibrando um grupo de 3 anteras
Grandes



Figura 15: Abelha vibradora não
identificada



Figura 16: Abelha vibradora não
identificada. Situação em que a
proximidade do estigma pode causar
polinização acidental

5 DISCUSSÃO

5.1 Sistema reprodutivo

Os resultados observados nas polinizações controladas corroboram aqueles obtidos por Goldenberg & Varassin (2001) com esta espécie, ou seja, *T. sellowiana*, mostrou ser uma espécie não apomítica, que produz frutos tanto através de polinizações cruzadas quanto de auto-polinizações, mas necessita de vetores para extração de pólen e transferência destes para o estigma, não sendo capaz de realizar, dessa forma, a auto-polinização espontânea. Na tribo Melastomeae, na qual *T. sellowiana* está inserida, é comum a ausência de apomixia e de mecanismos de auto-incompatibilidade. Em espécies dessa tribo analisadas 72,2% mostraram-se compatíveis e 22,2% apomíticas (Goldenberg e Shepherd, 1998). A alta taxa de grãos de pólen viáveis observados nesta espécie vem de encontro a proposta de Grant (1981), a qual relaciona baixas taxas de viabilidade polínica com o sistema apomítico. Em contrapartida, para o nível de população ou espécie, altas proporções de grãos viáveis (acima de 85%) indicam populações não apomíticas (Goldenberg & Varassin, 2001).

Tanto os tratamentos de auto-polinização manual quanto os de polinização cruzada tiveram grande sucesso na formação de frutos, com resultados semelhantes, o que indica ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade (Gibbs, 1990) e de manutenção preferencial de frutos provenientes de polinização cruzada (Holsinger, 1996 apud Fracasso, 2003). Há, no entanto, a separação espacial entre estigma e anteras (herkogamia), que impede a auto-polinização espontânea (Faegri & Van der Pul 1966). A receptividade do estigma e o amadurecimento das anteras ocorreram sincronicamente, abrindo possibilidades para a auto-polinização. De maneira geral, as abelhas exploravam várias flores dentro do mesmo indivíduo, sendo poucas vezes observadas visitas intercaladas entre plantas diferentes. Também esse comportamento vem a facilitar a transferência de pólen entre flores do mesmo indivíduo.

Diferentemente deste, no trabalho de Fracasso (2003), com *Cambessedesia hilariana*, espécie de Melastomataceae da tribo Microlícieae (Renner, 1993), os resultados obtidos na formação de frutos e de sementes

mostraram uma manutenção preferencial daqueles provindos da polinização cruzada, apesar de não ter sido encontrado mecanismo de auto-incompatibilidade.

Em comparação aos tratamentos de polinização cruzada e auto-polinização, as testemunhas tiveram sucesso relativamente baixo (32,5%), ao contrário daquele obtido no trabalho de Goldenberg & Varassin, cuja produção de frutos, nas testemunhas, ficou em torno de 76,5%. O baixo rendimento exibido pelas testemunhas pode ser explicado por dois fatores: a baixa taxa de visitas de polinizadores efetivos observadas (que por sua vez pode ser explicado pelas baixas temperaturas ocorridas durante o período em que foi realizado o trabalho) e pela aparente preferência destes por flores de outras espécies existentes no local, em que foi observado intenso forrageio de mamangavas.

5.2 Polinizações tardias

Os tratamentos realizados com flores de 1º dia - tarde, 2º dia - manhã e tarde e 3º dia - manhã, mostraram que nesses períodos a polinização ainda é possível, embora o sucesso na produção de frutos comece a declinar nas flores polinizadas no 2º dia à tarde.

Estes resultados não corroboram aqueles obtidos no trabalho de Goldenberg e Varassin (2001), em que se afirmou que as polinizações de segundo dia tem menor sucesso que as de primeiro dia. A metodologia adotada por esses autores foi a realização de polinizações de segundo dia em diversos horários, sem a divisão em manhã e tarde (R. Goldenberg, comunicação pessoal). O baixo rendimento de frutos provindos de flores de segundo dia, nesse trabalho (35%), pode ser explicado por esse aspecto. Um maior número de polinizações realizadas no período da tarde pode ter sido responsável por esse baixo resultado na produção de frutos, visto que nesse período, o sucesso na polinização começa a declinar.

Outro ponto de discrepância entre os dois estudos está na explicação dada para o menor sucesso observado nas polinizações de segundo dia naquele estudo, que foi a seguinte: “isso ocorre provavelmente porque os tubos polínicos levam entre 24 e 48 horas para atingir os óvulos e é nesse intervalo de tempo que os estiletes começam a cair. Em alguns casos não haveria tempo, portanto,

para que os tubos polínicos tivessem seu desenvolvimento completado em flores polinizadas no 2º dia”. No trabalho mencionado não houve coleta de flores com 36 horas de polinização (horário em que foram registradas as primeiras presenças de tubos polínicos dentro do ovário) e também não foram visualizados tubos polínicos adentrando os óvulos (Goldenberg, comunicação pessoal).

Como já descrito anteriormente, no presente trabalho, os estiletes permaneciam nas flores por períodos que variaram de 6 a 9 dias, dependendo se a flor houvesse sido ensacada ou não. Logo, a sugestão de que a queda do estilete e a conseqüente interrupção do crescimento do tubo polínico explica o menor sucesso das polinizações de 2º dia também é discutível, devido ao tempo de queda dos estiletes registradas na população do presente estudo.

Além disso, a análise microscópica do crescimento de tubo polínico mostrou que estes entram no ovário no intervalo que vai de 24 a 36 horas, mas começam a penetrar os óvulos apenas a partir do intervalo entre 48 e 60 horas após a polinização, para todos os tratamentos observados, com exceção daquele realizado em flores de 3º dia – manhã – 72 horas. Neste último caso, os estiletes estão com 6 dias de duração, sem ainda terem caído. Isso não significa obrigatoriamente que os estiletes não caiam antes de 6 dias, como talvez possa ter acontecido com as flores daquele trabalho.

No caso das flores polinizadas no 3º dia, observou-se a presença de tubos polínicos dentro do ovário, porém estes apresentavam-se “enrolados” e pareciam não estar se dirigindo aos óvulos. Não foi observado nenhum óvulo sendo penetrado no tratamento referido acima, o que pode explicar o fracasso na formação de frutos (apenas 3 em 15 flores tratadas). Visto que não há interrupção no crescimento dos tubos polínicos e que estes penetram o ovário em todos os tratamentos testados, uma explicação possível para esses resultados infrutíferos é a perda de viabilidade dos óvulos, que se iniciaria a partir do segundo dia de duração da flor, no período da tarde.

Os demais tratamentos de polinizações tardias que testaram a formação de frutos a partir de flores polinizadas com pólen de dois e de três dias, tiveram elevado sucesso, demonstrando que o grão de pólen mantém sua capacidade de fertilização durante esse período, corroborando os resultados obtidos com a análise da viabilidade, que demonstrou ser grande a proporção de grãos viáveis.

5.3 Visitantes florais e Mudança de coloração

A mudança de coloração na flor é um fenômeno bastante difundido, tanto taxonomicamente quanto geograficamente (Weiss, 1991). Entre as angiospermas, ocorre tanto em Magnoliopsida quanto em Liliopsida e já foi observado em 38% das ordens e em aproximadamente 20% das famílias (Weiss, 1995). Registros apontam para a ocorrência do fenômeno em 214 gêneros, 74 famílias e 33 ordens (Weiss, 1991). Nas famílias de angiospermas polinizadas por animais, aparece em 21% do total. O fenômeno é mais comumente encontrado entre os grupos considerados derivados e raramente entre os basais.

Alguns estudos têm especulado sobre o papel da mudança de coloração na flor e o papel que ela assume frente aos polinizadores. As respostas encontradas apontam para a indicação de viabilidade sexual da flor associada à disponibilidade de recursos aos visitantes (Weiss, 1991). Dessa forma, as flores recém abertas (*prechange flower*) ofertam néctar, pólen e tem estigma receptivo; a mudança de cor seria indicativo de flores “velhas” (*postchange flower*), que não ofertam recursos e apresentam o estigma não mais receptivo (Weiss, 1995; Buchman, 1983). Assim, a mudança regional de coloração da flor pode ser benéfica para ambos os envolvidos, planta e polinizador. Por um lado, a indicação visual da presença de recurso na flor faz com que o vetor de pólen poupe tempo e energia no momento do forrageio, uma vez que este é direcionado por essa sinalização. Por outro, as plantas podem receber esses “serviços” de forma mais efetiva, pois os vetores visitarão preferencialmente as flores receptivas.

Os visitantes de plantas cujas flores sofrem mudança de cor incluem insetos de 15 famílias e pássaros de 4 famílias e estes conseguem distinguir entre flores viáveis e inviáveis, visitando com uma frequência muitas vezes maior, as flores viáveis (Weiss, 1995).

A mudança de coloração, quando associada a permanência de flores velhas na planta, pode aumentar o número de visitas de polinizadores, devido ao papel de chamariz que estas assumem, atraindo os vetores à longas distâncias (Weiss, 1995). Em alguns estudos em que foram removidas as flores velhas de uma planta (ver Weiss, 1995), esta acabou por receber menos visitas que

aquelas que não tiveram essas flores removidas. Em outros casos, a manutenção dessas flores parece não contribuir para o aumento no número de visitas.

A parte da flor que muda de cor está relacionada ao tipo de polinizador. Flores polinizadas por abelhas, normalmente apresentam mudança de cor numa região localizada, como o centro da flor, o hipanto, nectários, guias de néctar, etc. (Weiss, 1995). Porém, no caso de *T. sellowiana*, não citada por essa autora em sua lista de espécies que mudam de cor, toda a flor sofre essa mudança. Normalmente, flores polinizadas por mariposas ou morcegos sofrem esse tipo de mudança (Weiss, 1995).

Em *T. sellowiana*, a grande quantidade de flores velhas retidas pelos indivíduos podem funcionar como chamariz na atração dos polinizadores. O fato das abelhas de visitarem preferivelmente as flores brancas em busca de pólen, mostram que mudança de cor (de branco para roxo) pode ser entendida pelos vetores como indicativo de ausência de recursos na flor. Apesar das visitas preferenciais às flores de primeiro dia, algumas abelhas foram avistadas visitando flores velhas, com o mesmo comportamento de buzz pollination. Também foram visitadas, especialmente por abelhas pilhadoras, algumas flores ensacadas de 2º dia cujas anteras apresentavam-se repletas de pólen. Neste caso é possível supor que a aparência ou a coloração levemente amarelada das anteras sejam também avaliadas pelas abelhas. As flores ensacadas e não polinizadas pareciam não ter uma mudança de cor tão intensa quanto às expostas a visita. Tal efeito pode ser devido ao ensacamento do botão, porém não é descartada a possibilidade de que a flor mantenha tais características visíveis de viabilidade, uma vez que não foram polinizadas. Porém, antes de lançar a suposição de que a mudança de cor pode ser influenciada pela realização da polinização, seriam necessários alguns testes com flores não ensacadas, mas também não visitadas.

A principal diferença encontrada na flor de *T. sellowiana* e que contraria a afirmação de que as flores velhas não são mais receptivas (Weiss, 1995) está na receptividade do estigma, que permanece viável após a mudança de cor e na capacidade de fertilização dos óvulos, que só começa a declinar a partir do segundo dia de desenvolvimento da flor, à tarde. Isso pode implicar num

aproveitamento das flores não visitadas de segundo dia, e possibilitar que estas ainda sejam polinizadas. Logo, a mudança de cor nesta espécie não está necessariamente associada a infertilidade da flor e receptividade do estigma.

Além dos mecanismos de mudança de cor, a espécie estudada apresenta outra característica considerada derivada dentro das angiospermas: as anteras poricidas. Estas podem ser encontradas em cerca de 70 famílias, abrangendo cerca de 6 a 8% de todas as angiospermas (Buchman, 1983). Normalmente, entre essas espécies, o néctar encontra-se ausente e o pólen é a única recompensa ofertada (Anderson & Symon, 1985 apud Harter et al). Estimou-se que cerca de 60% das espécies de angiospermas de anteras poricidas sejam aptas a ter seu pólen extraído por buzz pollination (Buchman, 1983). Além disso, as anteras poricidas representam um dos mecanismos mais sofisticados para proteger o pólen da ação da chuva e dos pilhadores (Harter et al, 2002), restringindo a exploração do pólen aos polinizadores efetivos (Buchman, 1983).

A grande maioria das abelhas que foram vistas coletando pólen de *T. sellowiana* apresentaram comportamento típico de vibração das anteras, à exceção de *Trigona subnuda* e *Paratrigona spinipes*. De todas as espécies de abelhas, apenas *Xylocopa artifex* e *Melipoda quadrifasciata*, mostraram-se capazes de serem polinizadoras efetivas nesta espécie, pois ao vibrar as anteras acabavam por tocar o estigma com o dorso sujo de pólen. As demais espécies, apesar de seu comportamento de vibração, eram capazes somente de vibrar as anteras uma a uma, devido ao seu pequeno porte, e por isso, não eram capazes de transferir o pólen ao estigma. Apenas um caso de polinização acidental foi registrado, por parte de uma dessas abelhas, a qual não foi identificada, mas isso não basta para caracterizar a espécie como polinizadora. Portanto, pode-se afirmar que dentro das espécies de abelhas encontradas visitando flores de *T. sellowiana* na população do estudo, apenas duas foram caracterizadas como polinizadoras efetivas e as demais, agindo como pilhadoras. Logo, além dos fatores climáticos, uma explicação que cabe nos resultados infrutíferos registrados nas flores testemunhas, está na intensa atividade de pilhagem sofrida pela população do estudo. A quantidade de abelhas pilhadoras superou em muitas vezes a de polinizadoras efetivas, e aquelas exploravam o pólen das anteras com muita eficiência, pois suas atividades iniciavam-se logo depois do

amanhecer e seguiam intensamente até o esgotamento do pólen das flores abertas.

No trabalho de Harter et al (2002), que estudou a visitação de abelhas a plantas com flores de anteras poricidas, realizado numa floresta de Araucária do Rio Grande do Sul, foram registradas diversas espécies de abelhas forrageando nas flores de *T. sellowiana* (ao todo, 21 espécies), sendo que apenas 6 apresentaram comportamento de vibração e as demais de pilhagem ou de recolhimento do pólen deixado pelas espécies vibratórias. Desse número, 5 espécies visitantes pertencem a família Apidae e apenas 1 (*Trigona spinipes*) não apresentou comportamento de vibração.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que a mudança de cor observada nas flores de *T. sellowiana*, não está relacionada à queda na fertilidade da mesma, tanto na função masculina (até o terceiro dia), quanto na feminina, ao menos na primeira parte do dia. É certo que as abelhas “preferem”, ou estão condicionadas a visitar as flores de primeiro dia, mas eventuais visitas em flores de segundo dia mostram que esta mudança na cor não inviabiliza as polinizações, podendo vir a funcionar como um indicativo de ausência de recurso. Outro aspecto interessante é a discreta mudança de cor que ocorre nas flores ensacadas: será que a mudança está fisiologicamente relacionada à polinização? Como forma de testar essa hipótese, um teste simples poderia ser realizado: envolver o botão em tule, de maneira que este ficasse exposto, mas impossibilitado de receber visitas de abelhas.

A questão da mudança de cor como sinalização para os vetores poderia, ainda, ser testada em outros aspectos. Somente a cor é avaliada pelos polinizadores? Para responder essa questão, poderiam ser feitos alguns testes, como por exemplo colocar anteras novas (cheias de pólen) em flores velhas e vice versa, testar a visitação em flores mutiladas (por exemplo sem pétalas, ou sem estames), modificar de alguma forma a coloração das pétalas e observar o comportamento dos polinizadores e também realizar testes de frequência de visitação por abelhas polinizadoras de forma mais adequada.

Como boa parte dos polinizadores efetivos de *T. sellowiana* tem a tendência a explorar flores da mesma planta, a auto-polinização é um fenômeno freqüente e, como foi visto, produz frutos em quantidades semelhantes aqueles obtidos na polinização cruzada. Portanto, a auto-polinização nesta espécie é bem tolerada.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUCHMANN, S. L. 1983. Buzz pollination in Angiosperms. *In* Handbook of experimental pollination biology (C. E. Jones & R. J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York. P. 73-113.
- BUCHMANN, S. L. & HURLEY, J. P. 1978. A biophysical model for buzz pollination in Angiosperms. *J. Theor. Biol.* 72: 639-657.
- ENDRESS, P. K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge. 511p.
- FRACASSO, C. M. 2003. Biologia da polinização e reprodução de *Cambessedesia hilariana* (Kunth.) DC. (Melastomataceae). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas.
- FAEGRI, K. & L. VAN DER PUL. 1966. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, Oxford. 291p.
- GIBBS, P. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. *Revista brasileira de Botânica* 13:125-136.
- GOLDENBERG, R. & SHEPHERD, G. J. 1998. Studies on the reproductive biology of *Melastomataceae* in "cerrado" vegetation. *Plant Systematics and Evolution* 211:13-29.
- GOLDENBERG, R. & VASSARIN, I. G. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de *Melastomataceae* da Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo, Brasil. *Revista brasileira de Botânica* 24(3): 283-288.
- GRANT, V. 1981. Plant Speciation. Columbia University Press, New York.

- HARTER, B., LEISTIKOW, C., WILMS, W., TRUYLIO, B. & ENGELS, W. 2002. Bees collecting pollen from flowers with poricidal anthers in a south Brazilian Araucaria forest: a community study. *Jornal of Apicultural Research* 40: 9-16.
- IAPAR. 1978. Cartas climáticas básicas do estado do Paraná. Fundação Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina. 220p.
- MAACK, R. 1981. Geografia Física do Estado do Paraná. José Olympo, Rio de Janeiro. 450p.
- MARTIN, F. N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34: 125-128.
- RADFORD, A. E., DICKISON, W.C., MASSEY, J.R. & BELL, C.R. 1974. Vascular plant systematics. Harper & Row Publishers, Inc., New York.
- REITZ, R., KLEIN, R.M. & REIS, A. 1983. Projeto madeira do Rio Grande do Sul. *Sellowia* 34-35: 1-525.
- RENNER, S. S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76: 496-518.
- RENNER, S. S. 1990. Reproduction and evolution in some genera of Neotropical Melastomataceae. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 143-152.
- RENNER, S. S. 1993. Phylogeny and classification of the Melastomataceae. *Nordic Journal of Botany* 13: 519-540.
- WEISS, M. R. 1991. Floral colour changes as cues for pollinators. *Nature* 354: 227-229.

WEISS, M.R. 1995. Floral color change: a widespread functional convergence. *American Journal of Botany* 82: 167-185.

WURDACK, J. J. 1962. Melastomataceae of Santa Catarina. *Sellowia* 14: 109-217.